

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

WPIDS COPYRIGHT 2000 DERWENT INFORMATION LTD

AN 2000-350588 [30] WPIDS

DNC C2000-106627

TI Agents for sustained treatment of bone metabolic disorders comprise **osteoclastogenesis inhibitory** factor and polysaccharide.

DC B04

IN FUJISE, N; HIGASHIO, K; MASUYAMA, C; MOCHIZUKI, S; TSUDA, E

PA (SANY) SANKYO CO LTD; (SNOW) SNOW BRAND MILK PROD CO LTD

CYC 37

PI WO 2000024416 A1 20000504 (200030)* JA 32p A61K038-19

RW: AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE

W: AU BR CA CN CZ HU ID IL IN JP KR MX NO NZ PL RU TR US ZA

AU 9964877 A 20000515 (200039) A61K038-19

ADT WO 2000024416 A1 WO 1999-JP5963 19991028; AU 9964877 A AU 1999-64877 19991028

FDT AU 9964877 A Based on WO 200024416

PRAI JP 1998-322874 19981028

IC ICM A61K038-19

ICS A61K047-36; A61P003-00; A61P019-08

ICA C07K014-52

AB WO 200024416 A UPAB: 20000624

NOVELTY - Agents for treating bone metabolic disorders comprise:

(i) an **osteoclastogenesis inhibitory** factor (OCIF), its analog and/or variant; and

(ii) a polysaccharide or its derivative.

ACTIVITY - Osteopathic; Antiarthritic; Antirheumatic.

MECHANISM OF ACTION - Calcium Antagonist.

No biological data given in abstract.

USE - For treating bone metabolic disorders such as osteoporosis, hyperglycemia and rheumatoid arthritis.

ADVANTAGE - Have long lasting activity and remain in the blood for long periods of time. Polysaccharide increases activity of **osteoclastogenesis inhibitory** factor (OCIF).

DESCRIPTION OF DRAWING(S) - Figure shows blood calcium levels in Wistar rats 3 hours after administering 0.5 mg/kg or 5.0 mg/kg of OCIF or 0.5 mg/kg of OCIF and 2 mg/kg dextran sulfate (molecular weight 5000) (D-1), 0.5 mg/kg of OCIF and 2 mg/kg dextran sulfate (molecular weight 10000) (D-3), 0.5 mg/kg of OCIF and 2 mg/kg heparin (207.8 U/mg) (H-1) or 0.5 mg/kg of OCIF and 2 mg/kg heparin (molecular weight 6000) (H-4) by tail vein injection compared to a control (top bar).

PCT

世界知的所有権機関
国際事務局

特許協力条約に基づいて公開された国際出願



(51) 国際特許分類7 A61K 38/19, 47/36, A61P 19/08, 3/00 // C07K 14/52	A1	(11) 国際公開番号 WO00/24416 (43) 国際公開日 2000年5月4日 (04.05.00)		
<table border="0"><tr><td data-bbox="180 401 808 1083">(21) 国際出願番号 PCT/JP99/05963 (22) 国際出願日 1999年10月28日 (28.10.99) (30) 優先権データ 特願平10-322874 1998年10月28日 (28.10.98) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 雪印乳業株式会社 (SNOW BRAND MILK PRODUCTS CO., LTD.)(JP/JP) 〒065-0043 北海道札幌市東区苗穂町6丁目1番1号 Hokkaido, (JP) 三共株式会社(SANKYO CO., LTD.)(JP/JP) 〒140-8710 東京都品川区広町1丁目2番58号 Tokyo, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 望月伸一(MOCHIZUKI, Shinichi)(JP/JP) 〒329-0433 栃木県河内郡南河内町緑5丁目22番6号 Tochigi, (JP) 藤瀬暢彰(FUJISE, Nobuaki)(JP/JP) 〒329-0511 栃木県下都賀郡石橋町石橋223-2 石橋ハイソ201 Tochigi, (JP)</td><td data-bbox="808 401 1450 1083">(41) 国際公開番号 増山千春(MASUYAMA, Chiharu)(JP/JP) 〒329-0511 栃木県下都賀郡石橋町石橋580-1 Tochigi, (JP) 津田英資(TSUDA, Eisuke)(JP/JP) 〒329-0434 栃木県河内郡南河内町祇園2-13-1 ダイヤパレス自治医大5番館407 Tochigi, (JP) 東尾侃二(HIGASHIO, Kanji)(JP/JP) 〒350-0822 埼玉県川越市山田1769-10 Saitama, (JP) (74) 代理人 藤野清也(FUJINO, Seiya) 〒160-0004 東京都新宿区四谷1丁目2番1号 三浜ビル8階 Tokyo, (JP) (81) 指定国 AU, BR, CA, CN, CZ, HU, ID, IL, IN, JP, KR, MX, NO, NZ, PL, RU, TR, US, ZA, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE) 添付公開書類 国際調査報告書</td></tr></table>			(21) 国際出願番号 PCT/JP99/05963 (22) 国際出願日 1999年10月28日 (28.10.99) (30) 優先権データ 特願平10-322874 1998年10月28日 (28.10.98) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 雪印乳業株式会社 (SNOW BRAND MILK PRODUCTS CO., LTD.)(JP/JP) 〒065-0043 北海道札幌市東区苗穂町6丁目1番1号 Hokkaido, (JP) 三共株式会社(SANKYO CO., LTD.)(JP/JP) 〒140-8710 東京都品川区広町1丁目2番58号 Tokyo, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 望月伸一(MOCHIZUKI, Shinichi)(JP/JP) 〒329-0433 栃木県河内郡南河内町緑5丁目22番6号 Tochigi, (JP) 藤瀬暢彰(FUJISE, Nobuaki)(JP/JP) 〒329-0511 栃木県下都賀郡石橋町石橋223-2 石橋ハイソ201 Tochigi, (JP)	(41) 国際公開番号 増山千春(MASUYAMA, Chiharu)(JP/JP) 〒329-0511 栃木県下都賀郡石橋町石橋580-1 Tochigi, (JP) 津田英資(TSUDA, Eisuke)(JP/JP) 〒329-0434 栃木県河内郡南河内町祇園2-13-1 ダイヤパレス自治医大5番館407 Tochigi, (JP) 東尾侃二(HIGASHIO, Kanji)(JP/JP) 〒350-0822 埼玉県川越市山田1769-10 Saitama, (JP) (74) 代理人 藤野清也(FUJINO, Seiya) 〒160-0004 東京都新宿区四谷1丁目2番1号 三浜ビル8階 Tokyo, (JP) (81) 指定国 AU, BR, CA, CN, CZ, HU, ID, IL, IN, JP, KR, MX, NO, NZ, PL, RU, TR, US, ZA, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE) 添付公開書類 国際調査報告書
(21) 国際出願番号 PCT/JP99/05963 (22) 国際出願日 1999年10月28日 (28.10.99) (30) 優先権データ 特願平10-322874 1998年10月28日 (28.10.98) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 雪印乳業株式会社 (SNOW BRAND MILK PRODUCTS CO., LTD.)(JP/JP) 〒065-0043 北海道札幌市東区苗穂町6丁目1番1号 Hokkaido, (JP) 三共株式会社(SANKYO CO., LTD.)(JP/JP) 〒140-8710 東京都品川区広町1丁目2番58号 Tokyo, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 望月伸一(MOCHIZUKI, Shinichi)(JP/JP) 〒329-0433 栃木県河内郡南河内町緑5丁目22番6号 Tochigi, (JP) 藤瀬暢彰(FUJISE, Nobuaki)(JP/JP) 〒329-0511 栃木県下都賀郡石橋町石橋223-2 石橋ハイソ201 Tochigi, (JP)	(41) 国際公開番号 増山千春(MASUYAMA, Chiharu)(JP/JP) 〒329-0511 栃木県下都賀郡石橋町石橋580-1 Tochigi, (JP) 津田英資(TSUDA, Eisuke)(JP/JP) 〒329-0434 栃木県河内郡南河内町祇園2-13-1 ダイヤパレス自治医大5番館407 Tochigi, (JP) 東尾侃二(HIGASHIO, Kanji)(JP/JP) 〒350-0822 埼玉県川越市山田1769-10 Saitama, (JP) (74) 代理人 藤野清也(FUJINO, Seiya) 〒160-0004 東京都新宿区四谷1丁目2番1号 三浜ビル8階 Tokyo, (JP) (81) 指定国 AU, BR, CA, CN, CZ, HU, ID, IL, IN, JP, KR, MX, NO, NZ, PL, RU, TR, US, ZA, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE) 添付公開書類 国際調査報告書			
(54)Title: REMEDIES FOR BONE METABOLIC ERRORS (54)発明の名称 骨代謝異常症治療剤 (57) Abstract Novel remedies for bone metabolic errors. These remedies comprise at least one member selected from the group consisting of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF), analogs thereof and variants thereof and polysaccharides or derivatives thereof. As the polysaccharides or derivatives thereof, use may be made of heparin, dextran sulfate, etc. These remedies have excellent therapeutic effects on bone metabolic errors such as osteoporosis, hypercalcemia and rheumatoid arthritis and can sustain the activities over a long time, which makes them highly useful as drugs.				

(57)要約

新規な骨代謝異常症治療剤を提供する。

破骨細胞形成抑制因子 (Osteoclastogenesis Inhibitory Factor; OCIF)、その類縁体、またはその変異体からなる群から選択される一以上の物質と多糖類またはその誘導体とからなる骨代謝異常症治療剤。多糖類またはその誘導体としては、ヘパリン、デキストラン硫酸等が用いられる。

骨粗鬆症、高カルシウム血症、慢性関節リウマチ等の骨代謝異常症に対して優れた治療効果を有し、その活性を長時間維持できる骨代謝異常症治療剤が提供される。医薬として有用である。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア
AL	アルバニア	EE	エストニア	LC	セントルシア	SD	スーダン
AM	アルメニア	ES	スペイン	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LK	スリ・ランカ	SG	シンガポール
AU	オーストラリア	FR	フランス	LR	リベリア	SI	スロヴェニア
AZ	アゼルバイジャン	GA	ガボン	LS	レソト	SK	スロヴァキア
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB	英国	LT	リトアニア	SL	シエラ・レオネ
BB	バルバドス	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SN	セネガル
BE	ベルギー	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	SZ	スワジランド
BF	ブルキナ・ファソ	GH	ガーナ	MA	モロッコ	TD	チャード
BG	ブルガリア	GM	ガンビア	MC	モナコ	TG	トーゴ
BJ	ベナン	GN	ギニア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BR	ブラジル	GW	ギニア・ビサウ	MG	マダガスカル	TZ	タンザニア
BY	ベラルーシ	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TM	トルクメニスタン
CA	カナダ	HR	クロアチア	ML	マリ	TR	トルコ
CF	中央アフリカ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	TT	トリニダード・トバゴ
CG	コンゴ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	UA	ウクライナ
CH	スイス	IE	アイルランド	MW	マラウイ	UG	ウガンダ
CI	コートジボアール	IL	イスラエル	MX	メキシコ	US	米国
CM	カメルーン	IN	インド	NE	ニジェール	UZ	ウズベキスタン
CN	中国	IS	アイスランド	NL	オランダ	VN	ヴェトナム
CR	コスタ・リカ	IT	イタリア	NO	ノルウェー	YU	ユーゴスラビア
CU	キューバ	JP	日本	NZ	ニュージーランド	ZA	南アフリカ共和国
CY	キプロス	KE	ケニア	PL	ポーランド	ZW	ジンバブエ
CZ	チェッコ	KG	キルギスタン	PT	ポルトガル		
DE	ドイツ	KP	北朝鮮	RO	ルーマニア		
DK	デンマーク	KR	韓国				

明 細 書

骨代謝異常症治療剤

技術分野

本発明は、活性及びその持続性が高い新規な骨代謝異常症治療剤に関する。本発明の骨代謝異常症治療剤は、骨粗鬆症、高カルシウム血症、慢性関節リウマチ等の骨代謝異常症に対して優れた治療活性を有し、医薬として有用である。

背景技術

骨は身体の支持能力だけでなく、生体内カルシウムの最大の貯蔵臓器として機能しており、生体に存在するカルシウムの99%は骨に蓄積されている。しかも、骨は絶えず骨吸収と骨形成という相反する作用を常に受けており、血清カルシウムの恒常性を保つ上で重要な役割を担っている。骨吸収において重要な役割を担っている破骨細胞が活性化されると、骨から過剰なカルシウムが血液中に流出し、血液中のカルシウムの恒常性が崩壊し、高カルシウム血症をきたすことが知られている。高カルシウム血症は癌の骨転移等により発症する疾患で、患者数の増加が予想され、その治療剤の開発が急がれている。現在、このような高カルシウム血症治療剤として、カルシトニン及びその誘導体、あるいはビスホスホネート系化合物が使用されている。しかし、これらの治療効果は満足できるものではなく、これらに代わる新規薬剤の開発が望まれている。

一方、破骨細胞の分化を抑制する蛋白性因子として知られている破骨細胞形成抑制因子(Osteoclastogenesis Inhibitory Factor; OCIF) (WO96/26217号公報)が、血清カルシウム低下作用を有することが報告されている (BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, Vol. 245, pp382-387(1998); Endocrinology, Vol. 139, pp4012-4015(1998))。OCIFは、全く新しい高カルシウム血症治療剤として期待できるが、OCIFは蛋白質であるため生体内で速やかに代謝される。

そこで、より安定で作用の強いOCIFの製剤の開発が望まれていた。

発明の開示

本発明者らは、上述の状況に鑑み鋭意研究の結果、OCIFに多糖類を加えて製剤化することにより、OCIFの有する骨代謝異常症に対する効果をさらに増強できることを見出した。従って本発明の課題は、骨代謝異常症に対するOCIFの効果をさらに増強し、その効果を持続せしめた骨代謝異常症治療剤を提供することにある。

本発明は、破骨細胞形成抑制因子（Osteoclastogenesis Inhibitory Factor; OCIF）、その類縁体、またはその変異体からなる群から選択される一以上の物質と多糖類またはその誘導体とからなる骨代謝異常症治療剤に関する。

本発明において前記多糖類としてヘパリン、また前記多糖類誘導体としてデキストラン硫酸が好ましい。

本発明により、骨粗鬆症、高カルシウム血症、慢性関節リウマチ等の骨代謝異常症に対して優れた活性とその持続性とを有する治療剤が提供され、医薬として有用である。

また、本発明は多糖類またはその誘導体を用いることにより破骨細胞形成抑制因子の活性を高める方法に関する。

本発明で用いるOCIFは、例えばW096/26217号公報に記載された方法により得られる天然型あるいは遺伝子組み換え型のものであり、その由来は特に限定されないが、特に好ましくはヒト型のものである。このような天然型あるいは遺伝子組み換え型OCIFとしては、非還元条件下SDS-PAGEにおける分子量が約60kDa のモノマー型、あるいは分子量が約120kDaのダイマー型のものがある。

また、本発明ではOCIFの類縁体あるいは変異体を用いても良い。類縁体としては、IMR-90細胞（ATCC CCL-186）のポリ（A）⁺ RNA を用いて作成したcDNAライブラリーから、OCIFcDNA断片をプローブとしてハイブリダイゼーション法により得られるOCIF類縁体のcDNAを発現ベクターに挿入し、そのベクターを通常用いられ

る宿主に組み込み、宿主で発現させ、常法により精製することにより得られるもの等が挙げられる。より具体的には、W096/26217号公報に記載されたOCIF2、OCIF3、OCIF4、またはOCIF5が挙げられる。

これらは、W096/26217号公報に記載されるように、OCIF2は、OCIFcDNAの塩基配列の265番目のグアニンから285番目のグアニンまでの21bpの欠失があり、アミノ酸配列ではOCIFのアミノ酸配列の68番目のグルタミン酸(Glu)から74番目のグルタミン(Gln)までの7アミノ酸の欠失があるものである。

OCIF3は、OCIFcDNAの塩基配列の9番目のシチジンがグアニンに変換されていて、アミノ酸配列ではOCIFのアミノ酸配列の-19番目のアスパラギン(Asn)がリジン(Lys)に変わっている。ただし、この点は、シグナル配列の中のアミノ酸置換であり、分泌されるOCIF3には影響しないと思われる。さらに、OCIFcDNAの塩基配列の872番目のグアニンから988番目のグアニンまでの117bpの欠失があり、アミノ酸配列ではOCIFのアミノ酸配列の270番目のスレオニン(Thr)から308番目のロイシン(Leu)までの39アミノ酸の欠失がある。

OCIF4は、OCIFcDNAの塩基配列の9番目のシチジンがグアニンに変換されていて、アミノ酸配列ではOCIFのアミノ酸配列の-19番目のアスパラギン(Asn)がリジン(Lys)に変わっている。又、22番目のグアニンがチミジンに変換されていて、アミノ酸配列ではOCIFのアミノ酸配列の-14番目のアラニン(Ala)がセリン(Ser)に変わっている。ただし、これらはシグナル配列の中のアミノ酸置換であり、分泌されるOCIF4には影響しないと思われる。さらにOCIFcDNAの塩基配列の400番目と401番目の間に約4kbのイントロン2の挿入があり、オープンリーディングフレームがその中で止まる。アミノ酸配列ではOCIFのアミノ酸配列の112番目のアラニン(Ala)の後に21アミノ酸からなる新規なアミノ酸配列が付加されているものである。

OCIF5は、OCIFcDNAの塩基配列の9番目のシチジンがグアニンに変換されてい

て、アミノ酸配列ではOCIFのアミノ酸配列の19番目のアスパラギン(Asn) がリジン(Lys) に変わっている。ただし、これはシグナル配列の中のアミノ酸置換であり、分泌されるOCIF5 には影響しないと思われる。さらに、OCIFcDNAの塩基配列の 400番目と 401番目の間に約1.8 kbのイントロン2 の後半部分の挿入があり、オープンリーリングフレームがその中で止まっている。アミノ酸配列ではOCIFのアミノ酸配列の 112番目のアラニン(Ala) の後に12アミノ酸からなる新規なアミノ酸配列が付加されているものである。

変異体としては、OCIFのアミノ酸配列に対し1 以上のアミノ酸が挿入、付加、置換、あるいは欠失されたものが挙げられる。より具体的には、OCIFcDNAに PCR法あるいは制限酵素による切断により置換あるいは欠失変異を入れたOCIF変異体cDNAを作成し、このcDNAを発現ベクターに挿入し、そのベクターを通常用いられる宿主に組み込み、宿主で発現させ、常法により精製することにより得られるものが挙げられる。

本発明で用いる多糖類は、単糖がグリコシド結合によって生じた重合体（グルカン）であり、好ましくは構成単糖が2 種以上からなるヘテロ多糖（ヘテログリカン）である。具体的には、天然多糖類として例えばヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、デルマタン硫酸、ヘパラン硫酸、ケラタン硫酸、カラギーナン、ペクチンまたはヘパリンなど、あるいは合成多糖類としては例えばデキストランなど、また、合成多糖類の誘導体としては例えばデキストラン硫酸などが用いられる。特に好ましくはグルカンが硫酸エステル化されたものが用いられ、例えばヘパリンの分子量 3,000～6,000 のものあるいはデキストラン硫酸の分子量 5,000～10,000のものが用いられる。本発明の骨代謝異常症治療剤は、OCIF、その類縁体、またはその変異体からなる群から選択される一以上の物質、及び多糖類またはその誘導体を、多糖類またはその類縁体がOCIF、その類縁体、またはその変異体に対し1～100 倍量、特に1～16倍量の割合で組み合わせるのが好ましい。OC

IF、その類縁体、またはその変異体からなる群から選択される一以上の物質と多糖類またはその誘導体とを組み合わせた本発明製剤は、OCIF単独投与に比べて持続性と治療効果が優れた骨代謝異常症治療剤として、例えば骨粗鬆症、高カルシウム血症、慢性関節リウマチ等の骨代謝異常症に対して有効である。

本発明の製剤は、ヒトあるいは動物に対し、医薬として経口的及び非経口的に安全に投与される。非経口的投与としては、例えば静脈注射、筋肉内注射、皮下注射、経鼻投与、口腔内投与、経粘膜投与等が挙げられる。これらの投与経路で投与するための製剤は公知の製剤学的製法に準じ、製剤として薬理学的に許容され得る担体、賦形剤、滑沢剤、着色剤等と共に医薬品組成物として投与される。注射剤を調製する場合は、OCIF及び多糖類の他に、必要に応じpH調整剤、緩衝剤、安定化剤、可溶化剤などを添加して、常法により注射剤とする。その際、ヒト血清アルブミンや界面活性剤等の公知の添加剤を併用してもよい。界面活性剤としては、例えばポリアニオン類や陰イオン性界面活性剤等が挙げられる。注射剤はバイアル瓶に分注し溶液製剤にするか、あるいは凍結乾燥製剤として、用時に適時蒸留水や生理的食塩水等に溶解することによって調製することができる。OCIFを3または24mg/kg・dayの用量で正常ラットに1日1回2週間連続静脈内投与したところ、骨密度と骨量の増大が確認されたが、38組織における組織病理学的な異常や血球数の変動等は観察されなかった(H. Yasuda et al.: *Endocrinology*, Vol. 139, pp1329-1337(1998))。このように、OCIFの作用は骨に特異性が高く、安全にヒトに投与できることが期待される。

本発明の骨代謝異常症治療剤を患者に投与する場合の投与量と投与方法は、症状の程度、患者の年齢、健康状態、体重などの条件によって異なるので特に限定されないが、例えば成人1日当たり約0.01～1mg/kgを非経口的に1日1～数回投与すれば良い。また、本発明製剤の活性は、血清カルシウムの濃度を測定することにより行うことができる。例えば、適当な溶媒を用いて調製したOCIF溶液に多

糖類を添加したものをラットに静脈内投与し、経時的に採血を行いその血清カルシウム濃度を常法により測定することにより行うことができる。

また、本発明は、多糖類またはその誘導体を用いて破骨細胞形成抑制因子の活性を高める方法に関する。本発明によると、OCIFの血中濃度を高め、OCIFの血清カルシウム濃度低下作用を増強することができる。

図面の簡単な説明

第1図は、実施例2における、OCIFに多糖類を添加した製剤の、投与3時間後の血清カルシウム濃度を示す。

〔符号の説明〕

D-1 : OCIF 0.5mg/kg+デキストラン硫酸 (分子量 5,000) 2mg/kg

D-2 : OCIF 0.5mg/kg+デキストラン硫酸 (分子量 8,000) 2mg/kg

D-3 : OCIF 0.5mg/kg+デキストラン硫酸 (分子量10,000) 2mg/kg

H-1 : OCIF 0.5mg/kg+ヘパリン (207.8 units/mg) 2mg/kg

H-2 : OCIF 0.5mg/kg+ヘパリン (171.2 units/mg) 2mg/kg

H-3 : OCIF 0.5mg/kg+ヘパリン (分子量 3,000) 2mg/kg

H-4 : OCIF 0.5mg/kg+ヘパリン (分子量 6,000) 2mg/kg

＊＊：危険率1%以下で有意差あり

第2図は、実施例3における、OCIFと多糖類の混合比を変えて投与した時の、投与3時間後の血清カルシウム濃度を示す。

〔符号の説明〕

＊＊：危険率1%以下で有意差あり

第3図は、実施例4における、OCIFに多糖類を添加した製剤を投与した時の、投与3, 6, 9時間後のそれぞれの血清カルシウム濃度を示す。

〔符号の説明〕

＊＊：危険率1%以下で有意差あり

第4図は、実施例5における、OCIFに多糖類を添加した製剤を投与した時の、経時的な血中OCIF濃度の変化を示す。

〔符号の説明〕

A：ダイマー型OCIFの血中濃度を示す図。

B：モノマー型OCIFの血中濃度を示す図。

●：OCIF

○：OCIF+デキストラン硫酸

第5図は、実施例5における、OCIFに多糖類を添加した製剤を投与した時の、モノマー型／ダイマー型OCIFの血中における割合の経時変化を示す。

〔符号の説明〕

A：OCIF

B：OCIF+デキストラン硫酸

○：ダイマー型OCIF

△：モノマー型OCIF

第6図は、実施例6における、OCIFに多糖類（デキストラン硫酸、リンゴペクチン又は甘皮類ペクチン）を添加した製剤の、投与後2及び4時間後の血中OCIF濃度を示す。

〔符号の説明〕

□：0.5mg/kg OCIF単独投与

◇：0.5mg/kg OCIF+0.5%デキストラン硫酸

○：0.5mg/kg OCIF+0.5%リンゴペクチン

△：0.5mg/kg OCIF+0.5%甘皮類ペクチン

第7図は、実施例6における、OCIFに多糖類（デキストラン硫酸、リンゴペクチン又はカラギーナン）を添加した製剤の、投与後2及び4時間後の血中OCIF濃度を示す。

[符号の説明]

□ : 0.5mg/kg OCIF単独投与

◇ : 0.5mg/kg OCIF+0.5%デキストラン硫酸

○ : 0.5mg/kg OCIF+0.5%リンゴペクチン

△ : 0.5mg/kg OCIF+0.5%カラギーナン (ラムダ)

第8図は、実施例7における、OCIFに多糖類（デキストラン硫酸又はリンゴペクチン）を添加した製剤の、静脈内投与後の血中OCIF濃度を示す。

[符号の説明]

○ : 50 μ g/kg OCIF単独投与

△ : 50 μ g/kg OCIF+0.1%デキストラン硫酸

□ : 50 μ g/kg OCIF+0.15%リンゴペクチン

第9図は、実施例7における、OCIFに多糖類（デキストラン硫酸又はリンゴペクチン）を添加した製剤の、筋肉内投与後の血中OCIF濃度を示す。

[符号の説明]

○ : 1mg/kg OCIF単独投与

△ : 1mg/kg OCIF+0.1%デキストラン硫酸

: 1mg/kg OCIF+0.15%リンゴペクチン

第10図は、実施例8における、OCIFに多糖類（リンゴペクチン）を添加した製剤の、投与4時間後の血清カルシウム濃度を示す。

発明を実施するための最良の形態

[実施例]

以下の実施例により本発明をより具体的に説明するが、これらは単に具体的に例示したのみであり、本発明はこれらによって何ら限定されるものではない。

[実施例1]

注射剤の製造・1

W096/26217号公報記載の方法に従って得られたヒトOCIF 500 μ g 及びヘパリン 2 mgを、0.15M NaCl及び0.01%Tween 80を含む 10mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH7.0) 5mlに溶解し、この溶液を0.22 μ m の滅菌フィルター (Millex GV, ミリポア社) で滅菌した後、バイアル瓶に充填することにより静注用注射剤を得た。

注射剤の製造・2

W096/26217号公報記載の方法に従って得られたヒトOCIF 500 μ g 及びデキストラン硫酸 2 mgを、0.15M NaCl及び0.01%Tween 80を含む 10mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0) 5mlで溶解し、この溶液を0.22 μ m の滅菌フィルター (Millex GV, ミリポア社) で滅菌した後、バイアル瓶に充填することにより静注用注射剤を得た。

〔実施例 2〕

多糖類の添加によるOCIFの血清カルシウム濃度低下効果・1

ヒト OCIF(ダイマー型)(W096/26217号公報記載の方法により得られた遺伝子組換え型OCIF) を、0.15M NaCl及び0.01%Tween 80を含む 10mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0) (以下、溶媒と称す) に溶解して調製したヒトOCIF 0.25mg/ml溶液 2 mlに、デキストラン硫酸 (分子量8000または10000 : シグマ社、及び分子量5000または50000 : 和光純薬社) あるいはヘパリン (207.8 または 171.2 unit/mg : 和光純薬社、及び分子量3000または6000 : シグマ社) 2 mgを溶解した後、4℃で一昼夜放置した。同時にヒト型OCIF 0.25 及び2.5 mg/ml 溶液並びに溶媒についても、4℃で一昼夜放置した。これらの被験試料液を、それぞれOCIFとデキストラン硫酸投与群 (D群)、OCIFとヘパリン投与群 (H群)(D群及びH群はOCIF量として0.5mg/kg投与)、OCIF単独投与群 (OCIF量として0.5mg/kg及び5mg/kg投与)、及び溶媒投与群として準備した。4週齢の雌性ウィスター系ラットに2ml/kgの用量で静脈内単回投与した。投与3時間後に眼窩採血を行い血清を調製し、得られた血清中のカルシウム濃度をカルシウムCテスト (和光純薬社) を用いて

測定した。結果を第1図に示す。この結果、種々のデキストラン硫酸あるいはヘパリンを添加した0.5mg/kgヒトOCIF投与により、有意な血清カルシウム濃度低下作用の増強効果が認められた。従って、多糖類の添加により、ヒトOCIFの血清カルシウム濃度低下作用を増強できることが確認された。

〔実施例3〕

多糖類の添加量によるOCIFの作用増強効果

実施例2と同様に調製したヒトOCIF 0.25mg/ml溶液 2mlに、ヒトOCIFに対してデキストラン硫酸（分子量5000：和光純薬社）1, 2, 4, 8, 16倍重量を溶解した後、4℃で一昼夜放置した。同様に、ヘパリン(207.8 units/mg：和光純薬社)も同じ比率でヒト型OCIF 0.25mg/ml溶液 2mlに溶解し、4℃で一昼夜放置した。

さらに、4 mg/ml に調製したデキストラン硫酸またはヘパリン溶液、0.25 及び2.5 mg/ml に調製したヒトOCIF溶液、及び溶媒のみについても、同様に4℃で一昼夜放置した。これらの被験試料液を、4週齢の雌性ウィスター系ラットに2ml/kgの用量で静脈内単回投与し、投与3時間後に眼窩採血を行い、血清を調製した。得られた血清中のカルシウム濃度を、カルシウムCテスト（和光純薬社）を用いて測定した。なお、このキットは、キレート法（オルトクレゾールフタレイコンプレキソン(OCPC)法）に8-キノリノールを添加し、マグネシウムの影響を除き、特異性を高めたもので、アルカリ条件下でOCPCと結合して紫紅色を呈し、その吸光度を測定することにより、カルシウム濃度を測定できるものである。結果を第2図に示す。この結果、デキストラン硫酸を、ヒトOCIFに対し4倍量以上添加した場合に、有意な血清カルシウム濃度低下作用が認められた。また、ヘパリンを、ヒトOCIFに対し等量を添加した場合でも、有意な血清カルシウム濃度低下作用が認められた。従って、ヒトOCIFと多糖類を特定の割合で同時に投与することにより、OCIFの血清カルシウム濃度低下作用がさらに増強されることが確認された。

〔実施例 4〕

多糖類の添加によるOCIFの持続性増強効果

溶媒で調製したヒトOCIF 2.5mg/ml 溶液 2mlに、デキストラン硫酸（分子量5000：和光純薬社）20mgを溶解した後、4℃で一昼夜放置した。ヘパリン（207.8 units/mg：和光純薬社）20mgもヒトOCIF 2.5mg/ml 溶液 2mlに溶解し、同様に4℃で一昼夜放置した。さらに、2.5 mg/mlに調製したヒトOCIF溶液及び溶媒についても、4℃で一昼夜放置した。得られた被験試料液を、4週齢の雌性ウィスター系ラットにそれぞれ2ml/kg（OCIF量として5mg/kg）の用量で静脈内単回投与し、投与3, 6, 9 時間後に眼窩採血を行い、血清を調製した。得られた血清中のカルシウム濃度を、カルシウムCテスト（和光純薬社）を用いて測定した。結果を第3図に示す。この結果、5mg/kgヒトOCIF溶液単独投与群では、投与3時間後で有意な血清カルシウム濃度の低下は認められたものの、投与6及び9時間には血清カルシウム濃度低下作用は認められなかった。

一方、ヒトOCIFに対して4倍量のデキストラン硫酸またはヘパリンを添加した2.5 mg/ml ヒトOCIF溶液は、投与9時間後でも有意な血清カルシウム濃度低下作用を有することが認められた。従って、ヒトOCIFと多糖類を同時に投与することにより、持続性増強効果が得られることが確認された。

〔実施例 5〕

多糖類の添加による血中OCIF濃度の持続効果・1

実施例2と同様に調製したヒトOCIF 1 mg/ml 溶液 1mlにデキストラン硫酸 4 mg/ml 溶液 1mlを加え、4℃で一昼夜放置した。この被験試料液を、9週齢の雄性ウィスター系ラットに1ml/kgの用量で静脈内単回投与し、投与 2, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 120, 240, 360, 480, 600, 720, 1440 分後に眼窩採血を行い血清を調製した。得られた血清中のヒトOCIF濃度を、ダイマー型OCIFを認識するモノクローナル抗体、モノマー型OCIFを認識するモノクローナル抗体(BIOCHEMICAL AND

BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, Vol. 245, pp382-387(1998))を用いて、W096/26217号公報記載の ELISA法により測定した。尚、全OCIF濃度は、ダイマー型OCIF濃度とモノマー型OCIF濃度の和として求めた。結果を第4図及び第5図に示す。この結果、500 μ g/kgヒトOCIF溶液単独投与群に比べて、ヒトOCIFに対して4倍量のデキストラン硫酸を添加したヒトOCIF溶液投与群は、明らかに高い血中OCIF濃度を維持した(第4図)。また、ダイマー型OCIFからモノマー型OCIFへの血中で変換が抑制されることが確認された(第5図)。従って、多糖類を添加することにより、OCIF血中濃度、特に血清カルシウム濃度低下活性の高いダイマー型OCIF(BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, Vol. 245, pp382-387(1998))の血中濃度が持続される。

[実施例6]

多糖類の添加による血中OCIF濃度の持続効果・2

実施例2と同様に調製したヒトOCIF 0.25mg/ml溶液 2mlに、デキストラン硫酸、リンゴペクチン、又は甘皮類ペクチン(全て和光純薬社)の0.5%溶液(溶媒: 0.15M NaCl, 0.01% ポリソルベート80含有 10mMリン酸ナトリウム緩衝液(pH 7.0))を等量混合し、室温にて4時間放置し、被験試料液を作製した。又、対照として0.25mg/ml OCIF溶液(2ml)のみにについても、同様に溶媒を等量混合し室温にて4時間放置した。これらの被験試料液を、4週齢の雄性ウィスター系ラットに2ml/kgの用量で静脈内単回投与し、投与2及び4時間後にエーテル麻酔下で眼窩採血を行い血清を調製した。得られた血清中のヒト型OCIF濃度を、W096/26217号公報記載のELISA法を用いて測定した。結果を第6図に示す。

又、前述と同様の方法で、ヒトOCIF 0.25mg/ml溶液 2mlに、デキストラン硫酸、リンゴペクチン、又はカラギーナン(ラムダ)(全て和光純薬社)の0.5%溶液を等量混合し、室温にて4時間放置し、被験試料液を調製した。又、対照として0.25mg/ml OCIF溶液のみにについても、同様に溶媒を等量混合し室温にて4時間放

置した。これらの被験試料液を、4週齢の雄性ウィスター系ラットに2ml/kgの用量で静脈内単回投与し、投与2及び4時間後にエーテル麻酔下で眼窩採血を行い血清を調製した。得られた血清中のヒト型OCIF濃度を、W096/26217号公報記載のELISA法を用いて測定した。結果を第7図に示す。

これらの結果、ヒト型OCIF溶液単独投与群に比べて、デキストラン硫酸、リンゴペクチン、甘皮類ペクチンを添加したいずれの被験試料投与群でも、明らかに高い血中OCIF濃度を維持した（第6図）。また、カラギーナンを添加した被験試料投与群でも同様に、明らかに高い血中OCIF濃度を維持した（第7図）。よって、これらの多糖類を添加することにより、OCIFの血中濃度が持続されることが確認された。

〔実施例7〕

多糖類の添加による血中OCIF濃度の持続効果・3

多糖類としてデキストラン硫酸あるいはリンゴペクチン（和光純薬社）を用いて、投与経路の違いによる血中OCIFの持続効果を検討した。溶媒（0.15M NaCl、0.01% ポリソルベート80含有10mMリン酸ナトリウム緩衝液（pH7.0））でヒトOCIFを静脈投与用は50 μ g/ml、筋肉内投与用は1000 μ g/mlになるように希釈したOCIF溶液を準備し、これに上述の多糖類を加え、それぞれ被験試料液とした。この時、デキストラン硫酸は静脈投与用あるいは筋肉内投与用OCIF溶液に、それぞれ0.1%になるように添加した。又、リンゴペクチンは、溶媒に溶解して3mg/mlに調製した溶液を、2倍量の静脈投与用あるいは筋肉内投与用OCIF溶液（それぞれ100 μ g/ml及び2000 μ g/ml OCIF 含有）に等量混合した。それぞれの溶液を4週齢の雄性ウィスター系ラットに1ml/kgの用量で単回投与した。投与後、静脈内投与は2, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 120, 240, 360 分後に、筋肉内投与は30分、1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 24 時間後に、それぞれエーテル麻酔下で眼窩採血を行い血清を調製した。得られた血清のヒト型OCIF濃度を、W096/26217号公報記載のELISA

法を用いて測定した。結果を第8図及び第9図に示す。

この結果、デキストラン硫酸あるいはリンゴペクチンを添加したOCIF溶液の、静脈内投与（第8図）あるいは筋肉内投与（第9図）において、明らかに高い血中OCIF濃度を維持した。よって、これらの多糖類を添加することにより、OCIFの血中濃度が持続されること、及び血中OCIF濃度の持続効果は投与経路にかかわらず観察されることが確認された。

〔実施例8〕

多糖類の添加によるOCIFの血清カルシウム濃度低下効果・2

実施例2と同様に調製したヒトOCIF 0.25mg/ml溶液 2mlに対して、リンゴペクチン（和光純薬社）の0.5%溶液（溶媒：0.15M NaCl, 0.01%ポリソルベート含有 10mM リン酸ナトリウム緩衝液（pH7.0））を等量混合し、室温にて4時間放置し、被験試料液を調製した。同時に、OCIF溶液（ヒトOCIF 0.25mg/ml溶液 2ml）に溶媒を等量混合したもの、及び溶媒のみを用意した。それぞれの被験試料液を、4週齢の雄性ウィスター系ラットに2ml/kgの割合で静脈内単回投与した。投与4時間後にエーテル麻酔下で眼窩採血を行い血清を調製し、得られた血清中のカルシウム濃度をカルシウムCテスト（和光純薬社）を用いて測定した。結果を第10図に示す。この結果、0.5mg/kgヒト型OCIF溶液単独投与群では血清カルシウム濃度低下作用は認められなかったが、リンゴペクチンを添加した0.5mg/kgヒト型OCIF投与群では、有意な血清カルシウム濃度低下作用が認められた。従って、多糖類の添加により、ヒト型OCIFの血清カルシウム濃度低下作用を増強できることが確認された。

産業上の利用可能性

本発明により、破骨細胞形成抑制因子、その類縁体、またはその変異体から選択される一以上の物質、及び多糖類またはその誘導体からなる骨代謝異常症治療剤が提供される。本発明により、骨粗鬆症、高カルシウム血症、慢性関節リウマ

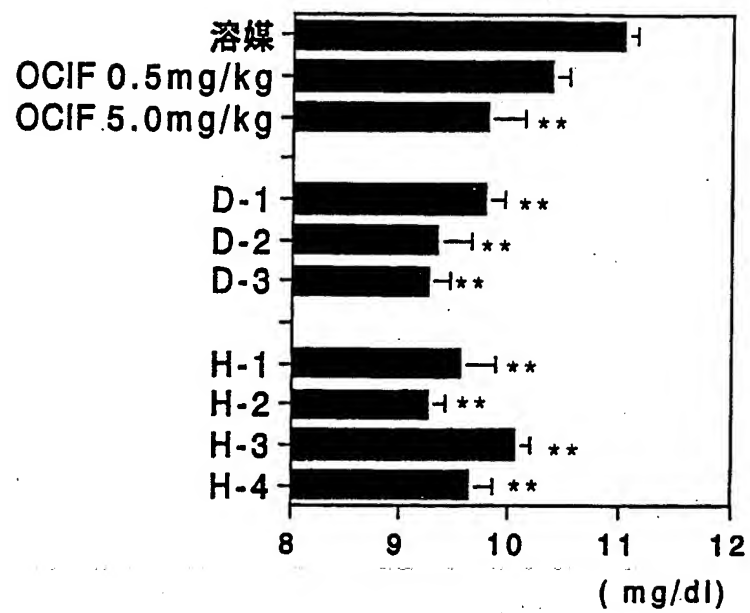
チ等の骨代謝疾患に対して優れた治療効果を有し、その活性を長時間維持できる骨代謝異常症治療剤が提供され、医薬として有用である。

請 求 の 範 囲

- (1) 破骨細胞形成抑制因子 (Osteoclastogenesis Inhibitory Factor; OCIF) 、
その類縁体、またはその変異体からなる群から選択される一以上の物質と多糖
類またはその誘導体とからなる骨代謝異常症治療剤。
- (2) OCIFがヒトOCIFである請求の範囲 1 記載の骨代謝異常症治療剤。
- (3) 多糖類がヘパリン、ペクチン、及び／またはカラギーナンである請求の範囲
1 記載の骨代謝異常症治療剤。
- (4) 多糖類誘導体がデキストラン硫酸である請求の範囲 1 記載の骨代謝異常症治
療剤。
- (5) 多糖類またはその誘導体を用いて破骨細胞形成抑制因子の活性化を高める方
法。

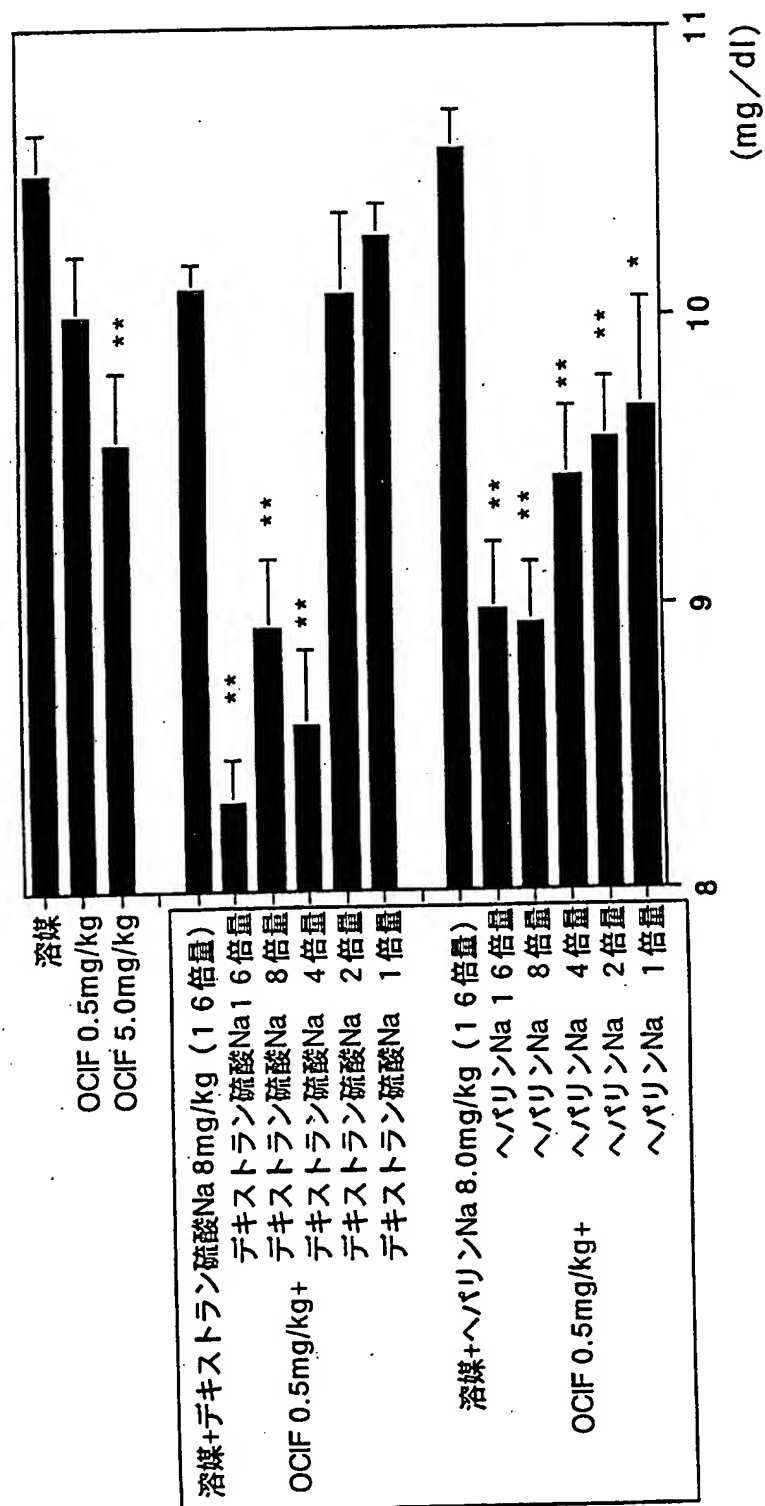
1/8

第1図



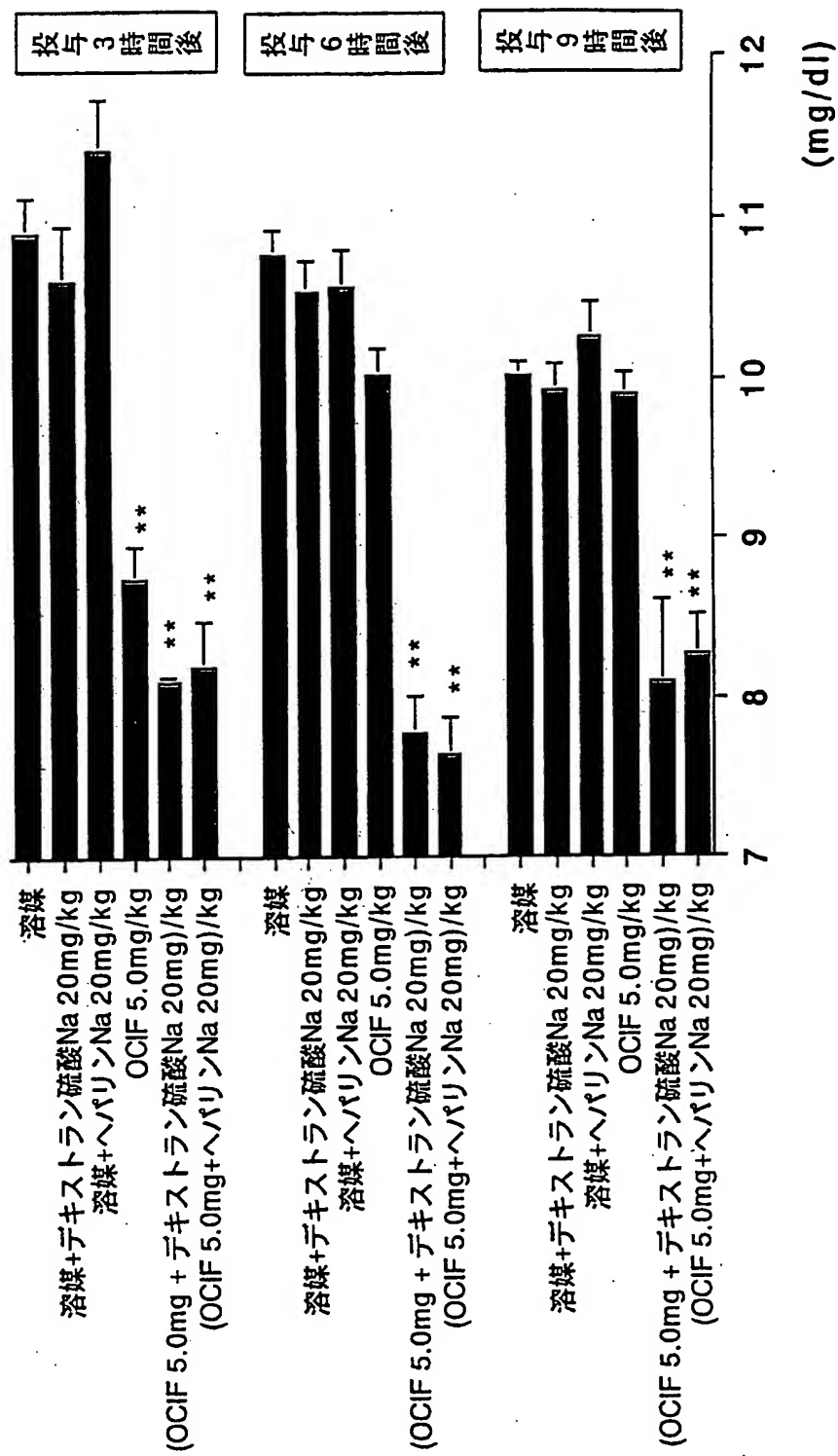
2/8

第2図



3/8

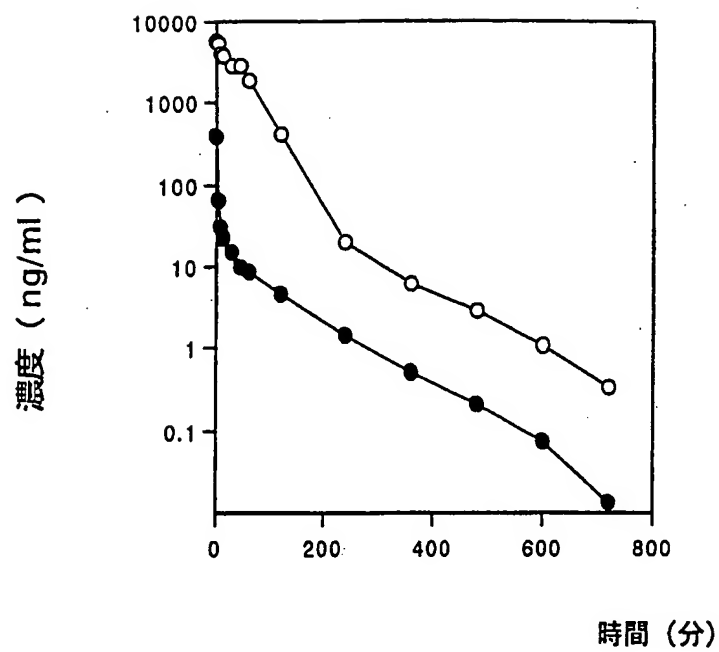
第3図



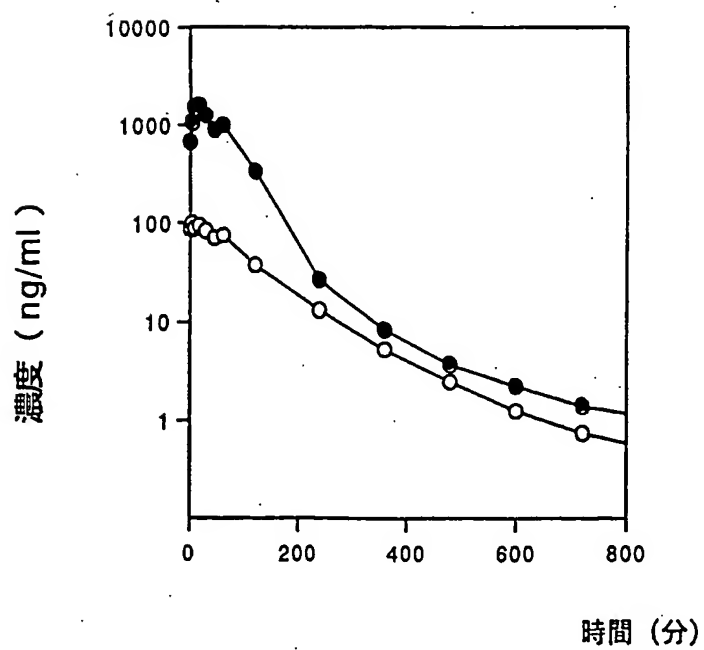
4/8

第4図

A



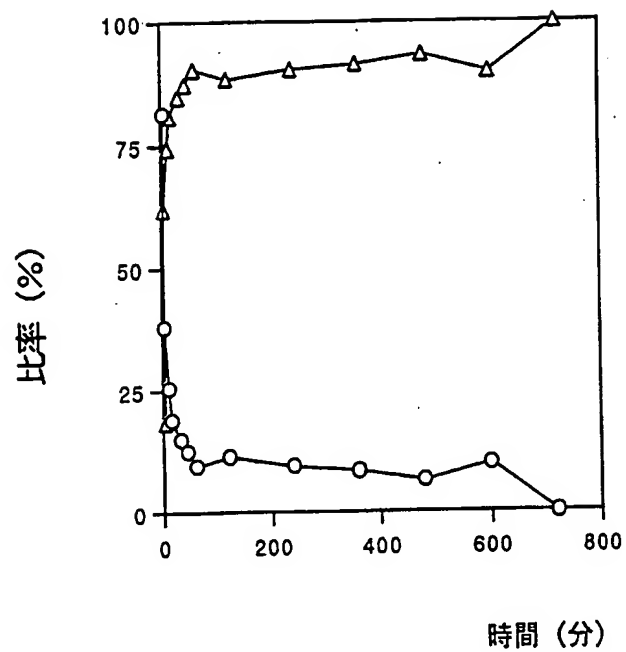
B



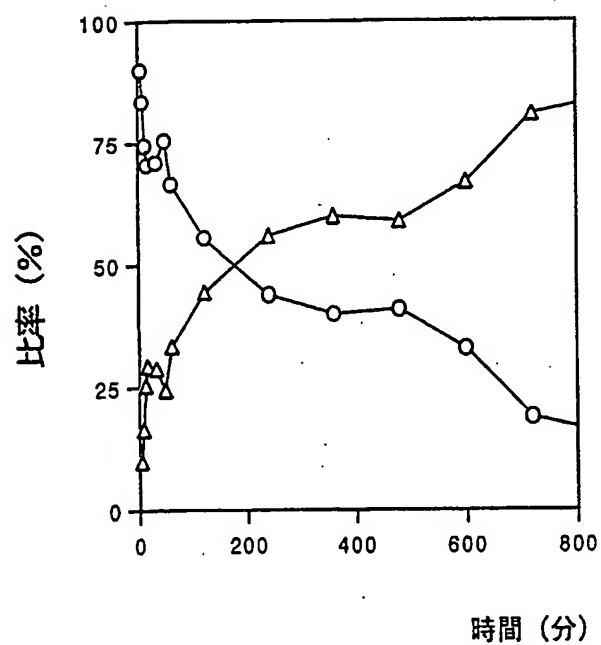
5/8

第 5 図

A

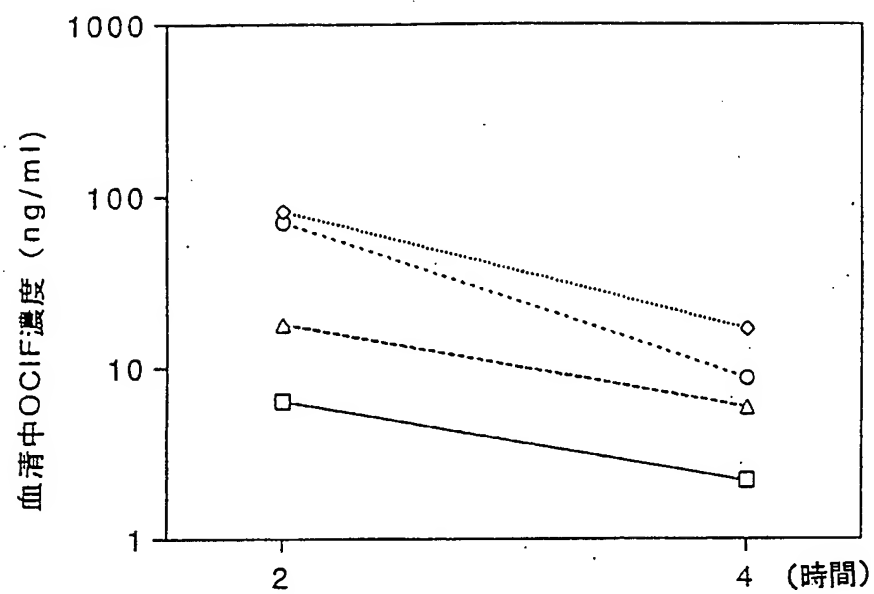


B

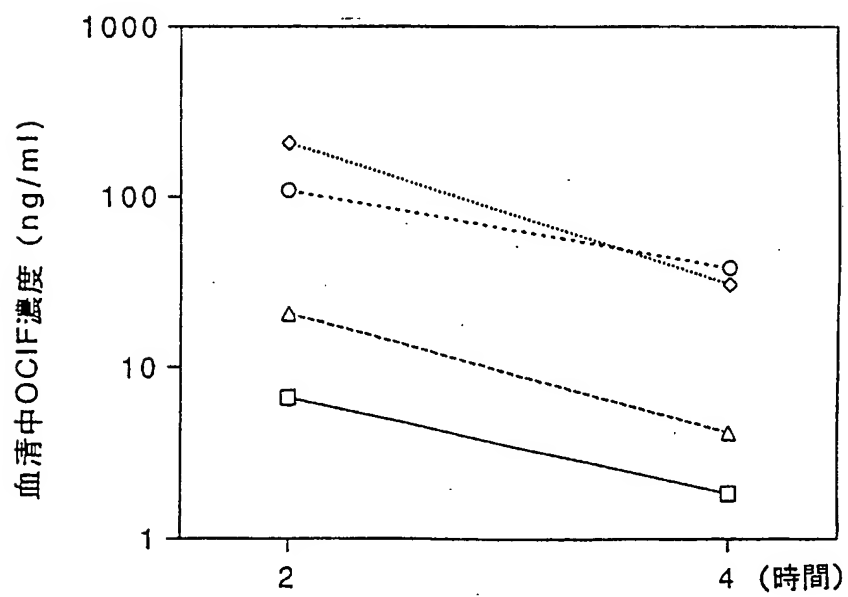


6/8

第6図

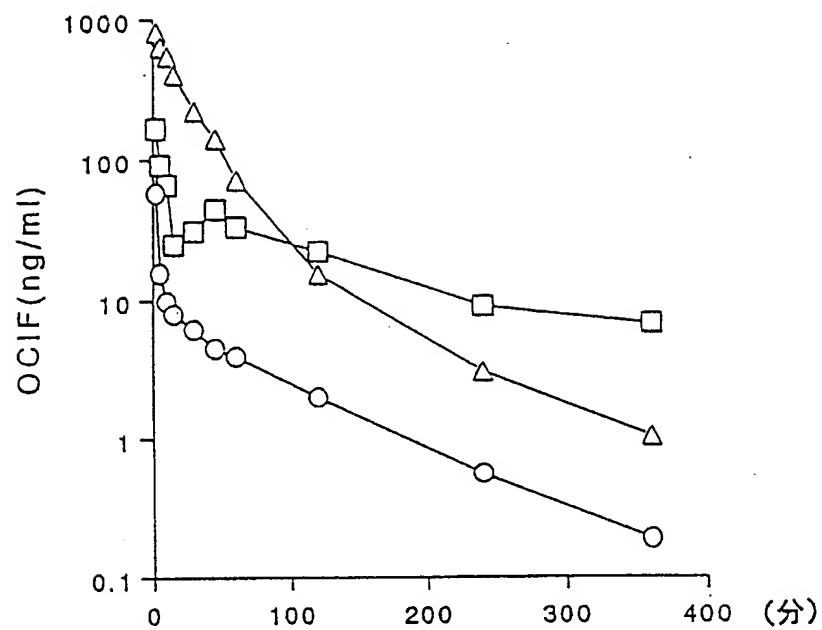


第7図

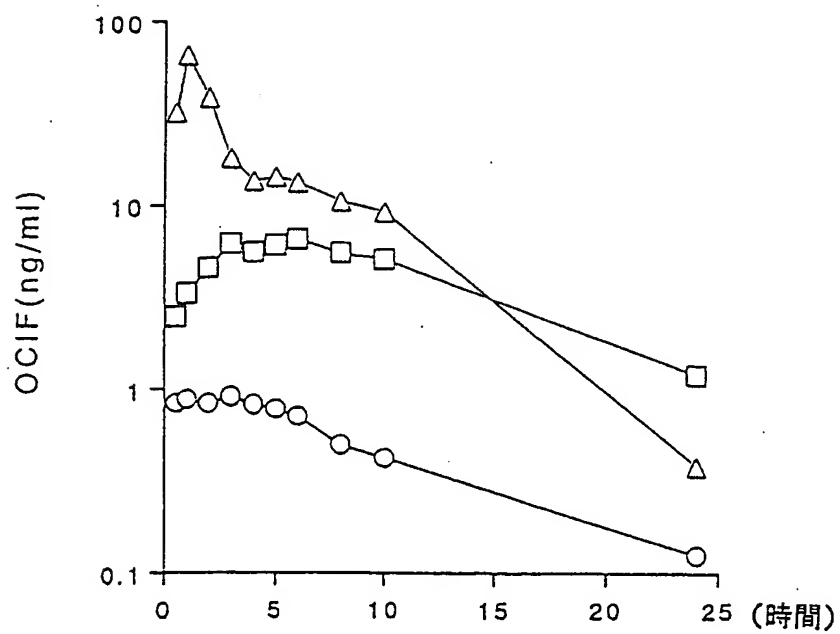


7/8

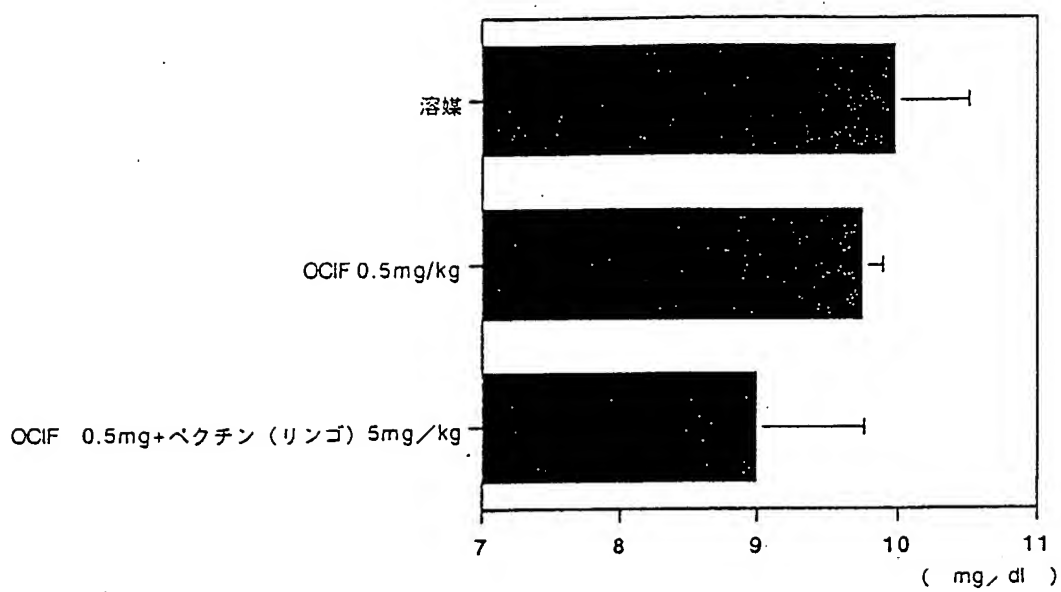
第8図



第9図



第10図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/05963

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K38/19, 47/36, A61P19/08, 3/00//C07K14/52

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K38/19, 47/36, A61P19/08, 3/00//C07K14/52

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAPLUS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP, 816380, A1 (SNOW BRAND MILK PRODUCTS CO., LTD), 07 January, 1998 (07.01.98) & WO, 96/26217, A1	1-4
A	WO, 98/46211, A1 (AMGEN INC.), 22 October, 1998 (22.10.98) (Family: none)	1-4
A	TOMOYASU, Akihiro et al., "Characterization of Monomeric and Homodimeric Form of Osteoclastogenesis Inhibitory Factor", BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, April 1998, Vol. 245, No. 2, pp.382-387	1-4
A	YAMAMOTO, Michiko et al., "Hypocalcemic Effect of Osteoclastogenesis Inhibitory Factor/Osteoprotegrin in the Thyroparathyroidectomized Rat", Endocrinology, September 1998, Vol. 139, No. 9, pp.4012-4015	1-4
A	CHOWDHURY, Majeedul H. et al, effects of Heparin on Osteoclast Activity, JOURNAL OF BONE AND MINERAL RESEARCH, 1992, Vol.7, No.7, pp.771-776	1-4

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
 "A" document defining the general state of the art which is not
 considered to be of particular relevance
 "E" earlier document but published on or after the international filing
 date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is
 cited to establish the publication date of another citation or other
 special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other
 means
 "P" document published prior to the international filing date but later
 than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or
 priority date and not in conflict with the application but cited to
 understand the principle or theory underlying the invention
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be
 considered novel or cannot be considered to involve an inventive
 step when the document is taken alone
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be
 considered to involve an inventive step when the document is
 combined with one or more other such documents, such
 combination being obvious to a person skilled in the art
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
04 January, 2000 (04.01.00)Date of mailing of the international search report
11 January, 2000 (11.01.00)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/05963

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	COCHRAN, D. L. et al., "Modulation of Bone Resorption by Glycosaminoglycans: Effects of Parathyroid Hormone and Interleukin-1, Bone, 1988, Vol. 9, No. 5, pp.331-5	1-4
A	JP, 62-201825, A (LION CORPORATION), 05 September, 1987 (05.09.87) (Family: none)	1-4
A	Chem. abstr., Vol. 123, No. 18, 30 October 1995 (Columbus, OH, USA), page 662, column 2, the Abstract No. 237583p & IL, 91438, A1	1-4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/05963

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 5
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

The subject matter of claim 5 relates to a method for treatment of the human body by therapy, which does not require an international search report by this International Search Authority in accordance with PCT Article 17(2) (a)(i) and Rule 39.1(iv).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 99/05963

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K38/19, 47/36, A61P19/08, 3/00//C07K14/52

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K38/19, 47/36, A61P19/08, 3/00//C07K14/52

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	EP, 816380, A1 (SNOW BRAND MILK PRODUCTS CO., LTD) 07. 1月. 1998 (07. 01. 98) &WO, 96/26217, A1	1-4
A	WO, 98/46211, A1 (AMGEN INC.) 22. 10月. 1998 (22. 10. 98) ファミリーなし	1-4
A	TOMOYASU, Akihiro et al, Characterization of Monomeric and Homodimeric Form of Osteoclastogenesis Inhibitory Factor, BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, April 1998, Vol. 245, No. 2, pp. 382-387	1-4

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

04. 01. 00

国際調査報告の発送日

11.01.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

滝原下

告

4C

9284

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	YAMAMOTO, Michiko et al, Hypocalcemic Effect of Osteoclastogenesis Inhibitory Factor/Osteoprotegrin in the Thyroparathyroidectomized Rat, Endocrinology, September 1998, Vol. 139, No. 9, pp. 4012-4015	1 - 4
A	CHOWDHURY, Majeedul H. et al, effects of Heparin on Osteoclast Activity, JOURNAL OF BONE AND MINERAL RESEARCH, 1992, Vol. 7, No. 7, pp. 771-776	1 - 4
A	COCHRAN, D.L. et al, Modulation of Bone Resorption by Glycosaminoglycans: Effects of Parathyroid Hormone and Interleukin-1, Bone, 1988, Vol. 9, No. 5, pp. 331-5	1 - 4
A	J P, 62-201825, A (ライオン株式会社) 05. 9月. 1987 (05. 09. 87) ファミリーなし	1 - 4
A	Chem. abstr., Vol. 123, No. 18, 30 October 1995 (Columbus, OH, USA), page 662, column 2, the abstract No. 237583p & I L, 91438, A1	1 - 4

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 5 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、請求の範囲5は治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査期間が調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。